

VIABILIDAD DE LAS CÉLULAS DEL LIGAMENTO PERIODONTAL EN DIFERENTES MEDIOS DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

VIABILITY OF PERIODONTAL LIGAMENT CELLS IN DIFFERENT STORAGE AND TRANSPORT MEDIA

Claudia Lauracio^{1a}, Elio Chayña^{1a}, Wilfredo Ramos^{1b}, Tania Padilla^{1b}, Paula Catacora^{2c}

RESUMEN

Objetivo. Determinar la viabilidad de las células del ligamento periodontal en cinco medios de almacenamiento y transporte (leche evaporada, leche fresca, clara de huevo, agua de coco y agua embotellada) en piezas dentales sanas que fueron extraídas por motivos ortodónticos. **Material y métodos.** Se separó el ligamento periodontal de las piezas para obtener solamente las células presentes utilizando una enzima (tripsina). Después del recuento fueron colocadas en los medios de almacenamiento a estudiar por 1, 3, y 24 h. Transcurrido este tiempo, se evaluó la viabilidad celular con la técnica de tinción por exclusión con azul de tripano. Se comparó estadísticamente la viabilidad de las células del ligamento periodontal en los medios estudiados, utilizando el análisis de varianza con la prueba t de Student, con un nivel de significancia al 1%, comparándolos con el valor de la T tabla 1% (2,88); cada medio del grupo experimental fue comparado con el grupo control. **Resultados.** Al comparar la viabilidad de los diferentes medios a 1, 3 y 24 h se determinó estadísticamente que los medios que mejor mantienen la viabilidad celular del ligamento periodontal son, en orden decreciente, como sigue: leche evaporada (-0,67), clara de huevo (-0,99), y agua de coco (-2,05). **Conclusiones.** Los medios como leche evaporada, clara de huevo y agua de coco son los que mantienen la viabilidad celular en mayor medida, y son recomendables para el almacenamiento y transporte de piezas dentales avulsionadas. (KIRU.2013;10(2):91-5).

Palabras clave: Medio de almacenamiento, viabilidad celular (Fuente: DeCS BIREME).

ABSTRACT

Objective. To determine the viability of periodontal ligament cells in five storage and transport media (evaporated milk, fresh milk, egg white, coconut water and bottled water) in healthy teeth that were extracted by orthodontics purposes. **Material and methods.** The periodontal ligament of the pieces was separated to obtain only the cells present using an enzyme (trypsin), after counting they were placed in the storage media to study by 1, 3 and 24 hours, after this time the cellular viability was evaluated with the dentition technique by exclusion with trypan blue. The viability of periodontal ligament cells was compared with the medium studied, using analysis of variance with the t-Student test with a significance level of 1% compared with the value of the table T 1% (2,88); each medium of the experimental group was compared with the control group. **Results.** By comparing the viability of the different media at 1, 3 and 24 hours was determined statistically that the medium which maintain cell viability of periodontal ligament, are in decreasing order as follows: evaporated milk (-0,67), egg white (-0,99), coconut water (-2,05). **Conclusions.** It concluded that, the medium evaporated milk, egg white and coconut water are the medium that maintaining cell viability greater extent and are recommended for the storage and transport of avulsed teeth. (KIRU.2013;10(2):91-5).

Key words: Storage medium, cell viability (Source: MeSH NLM).

¹ Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.

² Universidad Católica Santa María. Arequipa, Perú.

^a Cirujano dentista.

^b Mg. docente Escuela profesional de Odontología.

^c Estudiante de Biotecnología.

Correspondencia

Claudia Jessica Lauracio Lope
Jr. Arica 123-A, Arequipa, Perú. Teléfono: 9920-02090
Correo electrónico: jclaudia67@gmail.com

INTRODUCCIÓN

Los dientes son órganos vitales para desarrollar una vida normal. Las funciones que cumplen los dientes por sí mismos, o integrando entidades más amplias como el sistema dentario y el aparato masticador, son cuatro: masticatoria, fonética, estética y de preservación. Dichas funciones dependen de una dentadura completa y sana ⁽¹⁾. En nuestro país los traumatismos de la cabeza se encuentran entre

las diez primeras causas de atención hospitalaria ⁽²⁾, los que, en muchos casos, pueden incluir la pérdida de la pieza dental por avulsión; ocurre tanto en niños como en adultos por lo que constituye un problema de salud pública, no porque su prevalencia sea alta, sino por las secuelas que llega a ocasionar.

Debido a que el tratamiento de la avulsión dental es el reimplante de la pieza, es necesario tener en cuenta que

el éxito puede variar entre el 4 al 70%, esto depende de dos factores críticos para el pronóstico:

- El periodo extraoral (tiempo que el diente esta fuera de la boca = tiempo en medio seco + tiempo en medio húmedo).
- El medio de almacenamiento ⁽³⁾.

Söder *et al.* en 1977, observaron que después de 2 h de almacenamiento en seco de la pieza dental avulsionada, no era posible encontrar células viables en el ligamento periodontal ⁽⁴⁾. En 1981 el Dr. Jens Ove Andreasen encontró que utilizando medios de almacenamiento era posible incrementar la cantidad de células viables en el ligamento periodontal ⁽⁵⁾. Desde entonces se ha encontrado investigaciones que emplean diferentes medios de almacenamiento para piezas avulsionadas, entre ellas la solución salina ⁽⁶⁾, la saliva ⁽⁵⁾, las soluciones para lentes de contacto ⁽⁶⁾, la leche ⁽⁷⁾, Gatorade® ⁽⁸⁾, propóleos ⁽⁹⁾, entre otros. No se encontraron estudios en nuestro país, y los mencionados no se encuentran a fácil disposición del profesional; debido a esto, el presente trabajo pretende hallar datos referentes a medios de almacenamiento disponibles en nuestra localidad como la leche fresca, la leche evaporada (Gloria®), la clara de huevo, el agua de coco, o el agua embotellada (San Luis®); y, dado que para que se realice el reimplante y el tratamiento tenga éxito, es necesario conservar viables las células del ligamento periodontal; es por ello que estudiamos qué medios conservarán mejor la viabilidad celular y serán adecuados para el almacenamiento y transporte de piezas dentales avulsionadas.

Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio es determinar la viabilidad celular del ligamento periodontal en los medios estudiados a diferentes intervalos (1, 3 y 24 h) y, de este modo, indicar qué medio o medios son adecuados para el almacenamiento de piezas avulsionadas traumáticamente. Hallamos que tanto la leche evaporada, la clara de huevo y el agua de coco son medios adecuados para este fin. Sin embargo, consideramos que se debe seguir investigando el éxito de estos medios luego del tratamiento de reimplante; teniendo en cuenta sus propiedades tanto físicas como químicas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se empleó un diseño experimental con una variable independiente (medio de almacenamiento y transporte) y una variable dependiente (viabilidad celular del ligamento periodontal). Se utilizó como grupo control al medio de cultivo Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM). El muestreo fue no probabilístico, se tomó el periodonto de 40 piezas dentales (30 premolares y diez terceros molares) de las que se obtuvo un total de 27 395 000 células.

Se recolectó piezas dentales sanas y recién extraídas por motivos ortodónticos, se obtuvieron una o dos piezas por cada procedimiento; antes de la extracción se

hizo una profilaxis en la zona de la extracción y el paciente se enjuagó con una solución antiséptica (Colgate Plax®). Se realizó la exodoncia atraumática, la cual no duró más de 30 min desde que el operador empezó con las maniobras de luxación.

Una vez realizada la exodoncia, la pieza extraída se tomó con el fórceps con el que se realizó la avulsión, se utilizó una placa Petri con suero fisiológico para evitar la deshidratación de la raíz mientras se retiraban los restos hemáticos con un chorro suave de suero fisiológico por medio de una jeringa con 10 mL de solución salina. Después de retirar la sangre se encendió un mechero y frente a este se abrió el tubo falcón que sirvió como envase para 15 mL del medio de cultivo DMEM de Gibco®; una vez colocada la pieza en el frasco se calentó los bordes del mismo y la tapa a fin de evitar la contaminación microbiana del medio.

Se transportó el medio a temperatura ambiente (12-17 °C) en un tubo falcón cerrado herméticamente, el tiempo que transcurrió desde la exodoncia hasta los procedimientos de laboratorio fue entre 6 y 7 h, en todos los casos.

En el laboratorio se separó el ligamento periodontal de las piezas para obtener solamente las células presentes mediante un suave curetaje con un bisturí y la utilización de tripsina (0,13%) para desligar las células del respectivo tejido, las que se colocaron en 10 tubos eppendorf y se centrifugaron a 3000 rpm por 4 min, se retiró el medio de cultivo para quedarnos solamente con el sedimento celular, el cual se junto en un solo tubo eppendorf con 1 mL de suero fisiológico. A continuación se tomó una alícuota de 10 µL en otro tubo eppendorf y se le añadió 10 µL de azul de tripano (0,4%), luego de un minuto, se procedió a realizar el conteo celular en un hemocitómetro (cámara de Neubauer) a fin de hallar la cantidad de células viables obtenidas por unidad de volumen (#cel/mL).

Obtenido este dato, se procedió a dividir las células viables en grupos de 500 000, aproximadamente, por tubo; fueron centrifugadas nuevamente a 2000 rpm por 2 min; se retiró el suero fisiológico y quedó el sedimento celular, luego se añadió 1 mL del medio a evaluar, por el tiempo programado (1, 3, 24 h), en un frasco estéril preparado con anterioridad. Los frascos se pusieron en un baño María a 37 °C; transcurrido el tiempo previsto, se evaluó la viabilidad de las células del ligamento periodontal con azul de tripano. Para esto, se tomó una alícuota de 10 µL y se colocó en un tubo eppendorf al que se añadió 10 µL de azul de tripano (0,4%), luego de 1 min se procedió al conteo con la ayuda de un hemocitómetro en el microscopio. Por cada medio de almacenamiento y transporte se realizó el procedimiento tres veces en diferentes muestras celulares del ligamento periodontal, siguiendo la técnica descrita; dichas repeticiones fueron realizadas con la finalidad de darle validez estadística a este estudio. Los resultados se analizaron mediante el análisis de varianza utilizando la prueba t Student, con un nivel de significancia al 1% (T-tabla= -2,88), para comparar cada medio experimental con el grupo control a 1, 3 y 24 h y

determinar estadísticamente cuáles son los medios que conservan en mayor medida la viabilidad celular.

RESULTADOS

Los resultados estadísticos de los medios experimentales con respecto al medio de cultivo DMEM, determinados mediante el análisis de variancia con la prueba inferencial t Student con un nivel de significancia al 1%, muestran que a 1 h, los medios estudiados que mantienen significativamente la viabilidad celular al comparar con la T-tabla 1% (-2,88) son: clara de huevo, con conservación de células viables en un 93% (-0,80); leche fresca, con conservación en un 92% (-1,63); agua de

coco con 97% (-2,25), y leche evaporada Gloria® con 93% (-2,32); mientras que el agua embotellada San Luis® con conservación en 40% (-6,05) se encuentra fuera del límite inferior permisible (-2,88) por tanto, es el más perjudicial para la conservación de la viabilidad celular del ligamento periodontal (figura 1).

A las 3 h, los medios experimentales que mantienen significativamente la viabilidad celular son: leche fresca con 72% (-2,44); clara de huevo con 72% (-2,44); agua de coco con 91% (-2,63), y leche evaporada Gloria® con 80% (-4,85), mientras que agua embotellada San Luis® con 22% (-16,29) es perjudicial (figura 2).

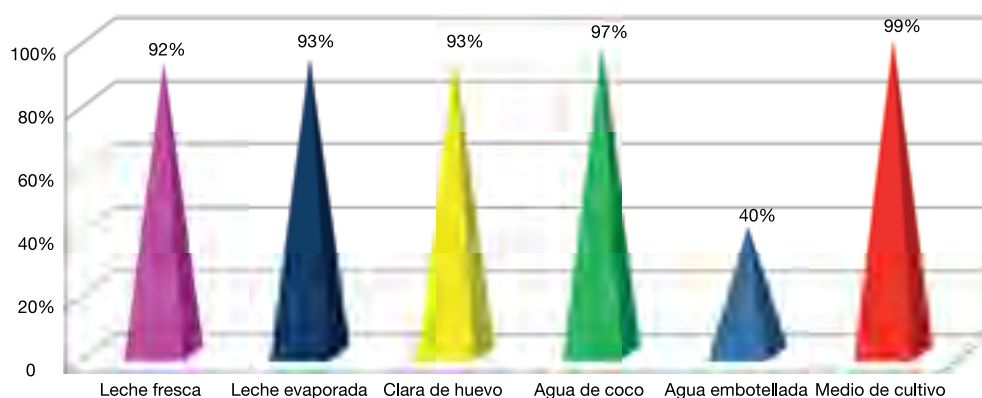


Figura 1. Promedio de la viabilidad de las células del ligamento periodontal en diferentes medios de almacenamiento y transporte a 1 h

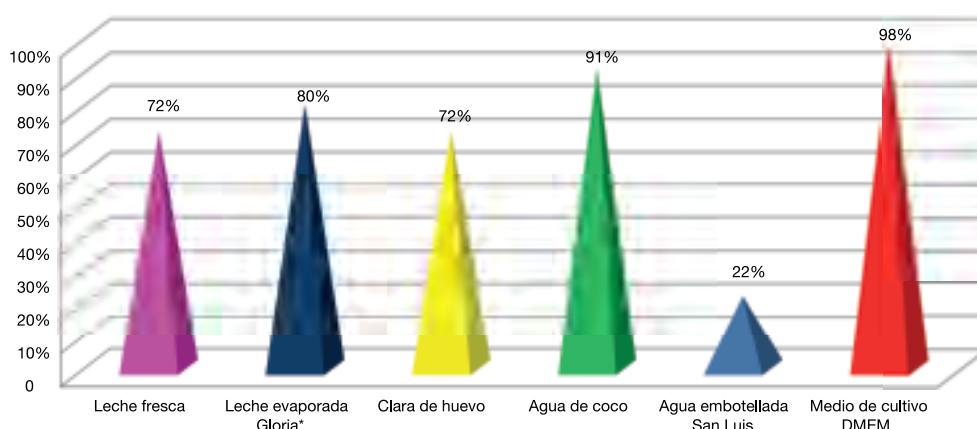


Figura 2. Promedio de la viabilidad de las células del ligamento periodontal en diferentes medios y tiempo de almacenamiento y transporte a 3 h

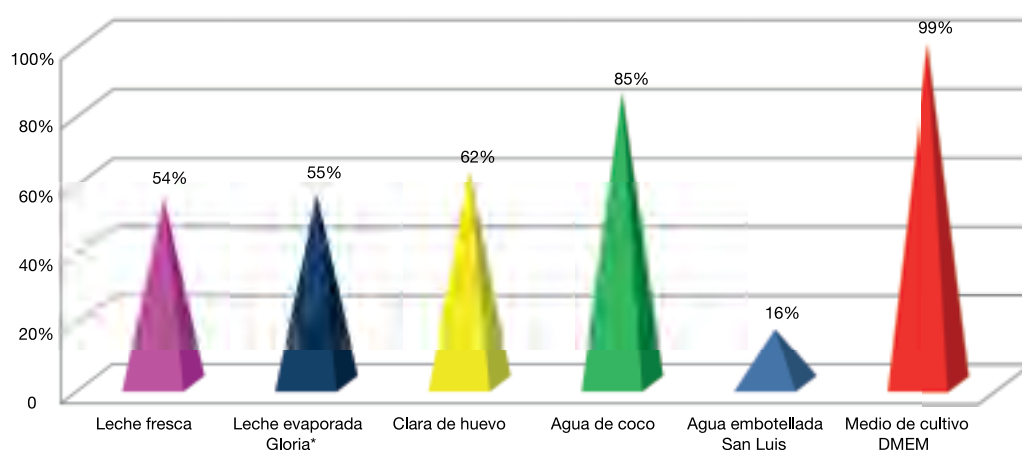


Figura 3. Promedio de la viabilidad de las células del ligamento periodontal en diferentes medios de almacenamiento y transporte a 24 h

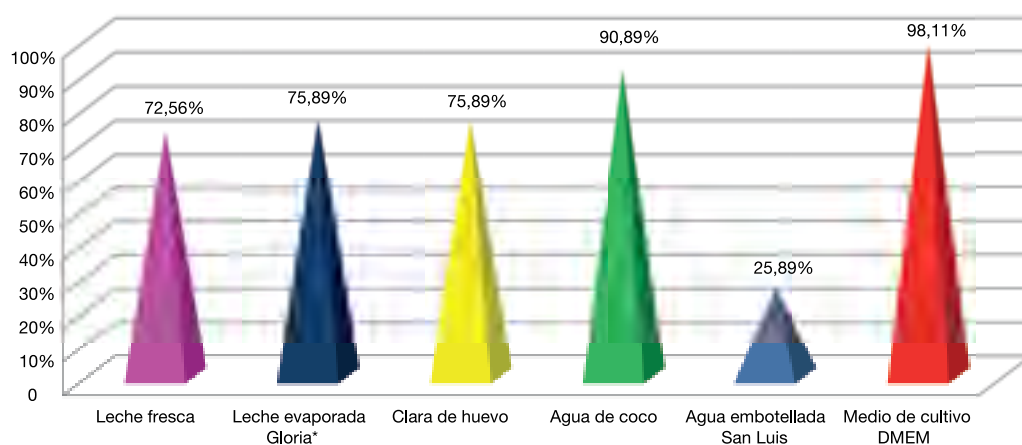


Figura 4. Promedio de la viabilidad de las células de ligamento periodontal en diferentes medios de almacenamiento y transporte

A 24 h, los medios experimentales que mantienen significativamente la viabilidad celular son: leche evaporada Gloria® con la conservación de células viables en un 55% (-2,23); agua de coco con 85% (-2,63), y clara de huevo con 62% (-2,24); mientras que leche fresca con 54% (-4,30), y agua embotellada San Luis® con 16% (-14,76) tienen resultados perjudiciales (figura 3).

Los medios estudiados en los diferentes tiempos (1, 3, 24 h), que mantienen significativamente la viabilidad celular son: la leche evaporada Gloria® con 76% (-0,67); la clara de huevo con 75,66% (-0,99), y el agua de coco con 91% (-2,85); mientras que leche fresca con 72,56% (-4,48), y el agua embotellada San Luis® con 26% (-4,86) se encuentran fuera del límite inferior permisible (-2,88) y son perjudiciales para la viabilidad celular del ligamento periodontal (figura 4).

DISCUSIÓN

El éxito del tratamiento del reimplante depende de la existencia de células viables en el ligamento periodontal, que son capaces de proliferar en áreas desnudas de

la superficie radicular. En medio seco, la viabilidad celular desciende rápidamente ⁽⁴⁾, sin embargo, utilizando medios de almacenamiento, la viabilidad celular puede mantenerse por más tiempo ⁽⁵⁾. De modo que los medios de almacenamiento son importantes para la preservación de la viabilidad celular en piezas avulsionadas.

A 1 h de almacenamiento Pearson ⁽¹⁰⁾, no encontró diferencia significativa entre la leche entera y la leche evaporada; Gopikrishna ⁽¹¹⁾, en un estudio después de 30 min en seco y posterior almacenamiento por 45 min en medios de almacenamiento, halló que el agua de coco fue superior al HBSS y la leche. Rozenfar ⁽¹²⁾, después de un periodo de almacenamiento de 90 min no pudo apreciar diferencias significativas entre la leche y la clara de huevo. El agua, en general, es utilizada como control negativo por sus características desfavorables ⁽¹³⁾. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que a 1 h no hay diferencia significativa entre los medios: leche fresca, leche evaporada, clara de huevo y agua de coco; mientras que el agua embotellada no mantuvo la viabilidad celular.

A 3 h de almacenamiento, este estudio mostró que el agua de coco, la leche fresca y la clara de huevo fueron las que mantuvieron significativamente la viabilidad celular. Pearson ⁽¹⁰⁾, pudo observar que en 4 h de almacenamiento, la leche entera fue mejor que la leche evaporada en mantener la viabilidad celular, en este estudio se pudo apreciar que en relación al grupo control en un periodo de 3 h, la leche evaporada no mantuvo la viabilidad celular. Khademi ⁽¹⁴⁾, halló que a 4 h la clara de huevo conservó mejor la viabilidad que la leche entera, en este estudio se pudo apreciar que, en relación al grupo control, ambos mantuvieron la viabilidad celular.

No se encontraron estudios a 24 h, sin embargo, Huang ⁽¹⁵⁾, observó que en un periodo de almacenamiento largo de 72 h la leche mantiene el 24% de la viabilidad celular; en este estudio se mostró que la leche evaporada y el agua de coco fueron los que mejor mantuvieron la viabilidad celular en relación al grupo control.

Al realizar un análisis general se concluye que los medios estudiados en los diferentes tiempos, la leche evaporada, la clara de huevo y el agua de coco fueron los que mejor mantuvieron la viabilidad celular, estos resultados concuerdan con los antecedentes mencionados.

El medio de almacenamiento y transporte es indispensable para el mantenimiento de la viabilidad celular del ligamento periodontal; siendo los medios leche evaporada Gloria®, clara de huevo, y agua de coco; los medios que mantienen la viabilidad celular en mayor medida y son recomendables para el almacenamiento y transporte de piezas dentales avulsadas.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio de Biomedicina & Biotecnología de Arequipa (IBBA)
C.C. La Negrita Of. 310, Arequipa-Perú.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Autofinanciado.

CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés en la publicación de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Figún ME, Garino RR. Anatomía odontológica funcional y aplicada: Sistema dentario. 2.ª ed. 5.ª reimp. Buenos Aires: El Ateneo; 2003.
- Ministerio de Salud-Oficina General de Estadística e Informática. Principales causas de morbilidad de hospitalización por sexo Perú-Año 2009. [Internet] Lima [Acceso 10 de enero de 2013] Disponible en: <http://www.minsa.gob.pe/estadisticas/estadisticas/Morbilidad/HSMacros.asp?00>
- Quintanilla del Solar CI. Medios de almacenamiento y transporte para dientes avulsados. Odontología Sanmarquina. 2007;10(2):24-8.
- Söder PO, Otteskog P, Andreasen JO, Modéer T. Effect of drying on viability of periodontal membrane. Scan J Dent Res. 1977;85(3):164-8.
- Andreasen JO. Effect of extra-alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. Int J Oral Surg. 1981;10(1):43-53.
- Huang Sh-Ch, Remeikis NA, Daniel JC. Effects of long-term exposure of human periodontal ligament cells to milk and other solutions. J Endod. 1996;22(1):30-3.
- Olson BD, Mailhot M, Anderson RW, Schuster GS, Weller RN. Comparison of various transport media on human periodontal ligament cell viability. J Endod. 1997;23(11):676-9.
- Harkacz OM, Carries DL, Walker III WA. Determination of periodontal ligament cell viability in the oral rehydration fluid gatorade and milks of varying fat content. J Endod. 1997; 23(11):687-90.
- Özan F, Polat ZA, Er K, Özan U, Deg'er O. Effect of Propolis on survival of periodontal ligament cells: new storage media for avulsed teeth. J Endod. 2007; 33(5): 570-3.
- Pearson RM, Liewehr FR, West LA, Patton WR, McPherson JC, Runner RR. Human periodontal ligament cell viability in milk and milk substitutes. J Endod. 2003; 29(3): 184-6.
- Gopikrishna V, Thomas T, Kandaswamy D. A quantitative analysis of coconut water: a new storage media for avulsed teeth. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2008; 105(2):61-5.
- Rozenfarb N, Kupietzky A, Shey Z. Milk and egg albumen are superior to human saliva in preserving human skin fibroblasts. Pediatr Dent. 1997;19(5):347-8.
- Özan F, Polat ZA, Er K, Özan U, Deg'er O. Effect of Propolis on survival of periodontal ligament cells: new storage media for avulsed teeth. J Endod. 2007;33(5):570-3.
- Khademi AA, Saei S, Mohajeri MR, Mirkheshti N, Ghassami F, Torabi nia N, et al. A new storage medium for an avulsed tooth. J Contemp Dent Pract. 2008;9(6):25-32
- Huang Sh-Ch, Remeikis NA, Daniel JC. Effects of long-term exposure of human periodontal ligament cells to milk and other solutions. J Endod. 1996;22(1):30-3.

Recibido: 17 de julio de 2013

Aceptado para publicación: 02 de octubre de 2013

Citar como: Lauracio C, Chayña E, Ramos W, Padilla T, Catacora P. Viabilidad de las células del ligamento periodontal en diferentes medios de almacenamiento y transporte. KIRU.2013;10(2):91-5.